

616.610
Haw
E 2

**EFEK PEMBERIAN ANTIOKSIDAN PADA KERUSAKAN GINJAL
AKIBAT OBSTRUKSI TOTAL URETER SATU SISI
(STUDI EKSPERIMENTAL PADA HEWAN COBA)**



Oleh

Lakshmi Nawasasi

Pembimbing

dr. H. Rifki Muslim, SpB, SpBU.

Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran UNDIP/
SMF Bedah RSUP dr. Kariadi Semarang
Desember 2003

TULISAN INI TELAH SELESAI DIPERIKSA DAN DIKOREKSI

Semarang, Desember 2003

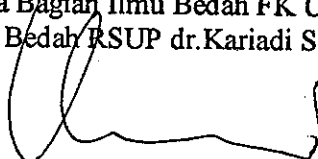
Pembimbing:



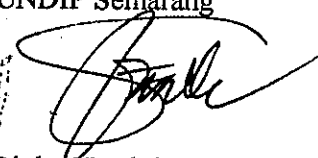
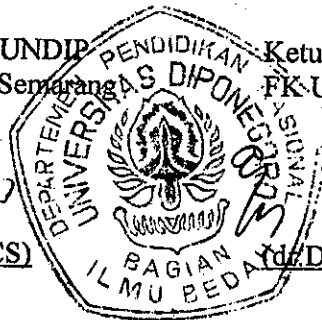
dr.H.Rifki Muslim,SpB,SpBU
NIP. 130 345 802

Mengetahui:

Ketua Bagian Ilmu Bedah FK UNDIP SMF Bedah RSUP dr.Kariadi Semarang
Ketua Program Studi Ilmu Bedah FK-UNDIP Semarang



(dr.H.Abdul Wahab,SpBO,FICS)
NIP. 130 345 795



dr.Djoko Handojo SpB,SpBOnk)
NIP 130 675 341

KATA PENGANTAR

Puji dan sujud syukur kepada Allah SWT yang berkenan memberikan rahmat, hidayah Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Akhir ini yang disusun dalam upaya memenuhi persyaratan menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I dalam bidang Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Terselesaikannya Karya Tulis Akhir ini juga berkat arahan dan dorongan dari berbagai pihak, oleh karena itu saya menghaturkan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Prof. Dr. H. Heyder bin Heyder (alm) selaku sesepuh Bagian Bedah yang patut saya suritauladani.
2. Dekan Fakultas Kedokteran UNDIP Semarang, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan spesialisasi.
3. Direktur RSUP dr. Kariadi Semarang beserta staf, yang telah memberikan kesempatan dan kerjasama yang baik selama menjalani pendidikan.
4. Bapak dr. H. Abdul Wahab, Sp.B. Sp.BO. FICS, selaku Ketua Bagian Bedah FK UNDIP/Kepala SMF Bedah RSDK Semarang yang telah berkenan memberikan bimbingan dan arahan selama menempuh pendidikan.
5. Bapak dr. Djoko Handojo, SpB,SpBOnk, selaku Ketua Program Studi Ilmu Bedah yang telah dengan susah payah membimbing dan mendidik saya.
6. Bapak dr.H.Rifki Muslim,SpB,SpBU, selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, petunjuk dan koreksi dalam penyelesaian tulisan ini
7. Guru-guru di lingkungan Program Studi Ilmu Bedah FK UNDIP yang sangat saya hormati: Dr. F. Sutoko, SpB, SpBP; DR. Dr. Saleh Mangunsudirdjo, SpB, SpBO, FICS (alm); Dr. Darsito, SpB, SpBD, DR. Dr. Rudy Yuwana, SpB, SpBU; Dr. H. Rifki Muslim, SpB, SpBU; Dr. H. Abdul Wahab, SpB. SpBO. FICS; Dr. Andy Maleachi, SpB, SpBD; Prof. DR. Dr. H. A. Faik Heyder, SpB, SpBTV; Prof. DR. Dr. I. Riwanto, SpB, SpBD; Dr. Djoko Handojo, SpB, SpBOnk; Dr.H.Yulianto Suwardi, SpB, SpBA; Dr. Sidharta Darsojono, SpB, SpBU; Dr.Karsono Mertowidjojo, SpB, SpBP; Dr. H. Subianto, SpB, SpBonk;

Dr. H. Johnny Sjoeb, SpB, SpBD; Dr. Bambang Sutedjo, SpB, SpBO, FICS; Dr. Ardy Santosa, SpBU; Dr. Artisto putro, SpB, SpBOnk (Alm); Dr. M. Mulyono, SpB, SpBD; Dr. Sahal Fatah, SpB, SpBTV; DR. Dr. H. Zainal Muttaqin, PhD SpBS; Dr. Ery BPS Andar, SpBS; Dr. Gunadi K, SpBS; Dr. Djani Bijantoro, SpB, SpBA; Dr. Benny Issac, SpB, SpBOnk.; Dr. Moh. Adi Santoso, SpBU. Atas segala curahan ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama penulis menjalani pendidikan.

8. Bapak drh. Sudjiman DS.SU selaku kepala UPHP (Unit Pengembangan Hewan Percobaan) – UGM Jogjakarta, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk melakukan penelitian ini.
9. Ibu Dwi Nofiarny, D.Si.Apt.M.Kes selaku *clinical research manager* PT Dexa Medica yang telah banyak membantu menyediakan preparat obat antioksidan dalam bentuk siap pakai.
10. Bapak drh. Bambang Sutrisno.MP, ahli patologi anatomi hewan, UPHP-UGM Jogjakarta, yang telah banyak membantu dalam hal pemeriksaan, pembacaan preparat dan pembuatan slide PA serta teknik operasi hewan coba dilapangan.
11. Bapak Soegito – yang mengepalai tugas lapangan di UPHP – UGM Jogjakarta, banyak membantu dalam hal pemeliharaan kelinci pre dan post operasi serta teknik pelaksanaan penelitian di lapangan.
12. Ibu drh. F. Sri Wiryaningsih dan para staf bagian patologi klinik UPHP-UGM yang membantu dalam hal pemeriksaan sampel kimia darah kelinci pre dan post operasi
13. Bapak Jiwo, Bapak Amat, Ibu Ati, selaku tenaga pekerja di UPHP-UGM dan para mahasiswa/i fakultas kedokteran hewan UGM atas partisipasinya membantu memperlancar kerja sewaktu melakukan penelitian ini
14. Ibu Sulis – Asia Lab karangmalang-Jogjakarta yang banyak membantu penyediaan alat-alat dan bahan yang diperlukan dalam penelitian ini.
15. Rekan-rekan Residen PPDS I Ilmu Bedah FK UNDIP, yang telah memberikan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ini.
16. Ingatan cinta kedua orang tua yang senantiasa ada didalam hati, rasa sayang, kasih serta doa dan dorongan semangat yang tak pernah henti dari kakak-kakak.

17. Beberapa pihak yang tidak dapat saya abaikan keberadaannya selama saya menempuh pendidikan

Penulis menyadari bahwa penyusunan Karya Tulis ini mungkin masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis senantiasa terbuka untuk segala kritik dan saran dari berbagai pihak sehingga dapat menambah kesempurnaan tulisan ini.

Akhirnya semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, Desember 2003

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Ginjal	6
B. Obstruksi Nefropati	7
B. Radikal Bebas, Antioksidan dan pengaruhnya pada iskemia Jaringan.	9
BAB III KERANGKA TEORI	22
BAB IV HIPOTESIS	23
BAB V METODE PENELITIAN	24
A. LINGKUP PENELITIAN	24
B. JENIS PENELITIAN	24
C. SAMPEL PENELITIAN	24
D. IDENTIFIKASI VARIABEL	25
E. ALAT-ALAT PENELITIAN	26
F. CARA KERJA	26
G. DROP OUT	27
H. PROSEDUR OPERASI	27
I. ALUR PENELITIAN	29
J. VARIABEL-VARIABEL LAIN	29
K. ANALISA DATA	30

BAB VI	HASIL PENELITIAN.....	31
BAB VII	PEMBAHASAN.....	36
BAB VIII	KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
	A. Kesimpulan	38
	B. Saran.....	38
BAB IX	DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	42

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Obstruksi nefropati adalah suatu keadaan ditandai dengan rusaknya parenkim ginjal akibat obstruksi aliran urin sepanjang traktus urinarius ^(1,2,3,4).

Obstruksi sebelah proksimal akan menyebabkan kelainan lebih berat dibandingkan obstruksi sebelah distal. Berat ringan kerusakan ginjal akibat obstruksi dipengaruhi oleh lokasi, derajat dan lamanya obstruksi.

Perubahan-perubahan yang terjadi akibat dari obstruksi ureter adalah :

1. Perubahan secara umum

Pada obstruksi terjadi kenaikan tekanan intra renal yang diikuti dilatasi bagian proksimal dari obstruksi. Ginjal udem, hemoragis dan dapat terjadi ekstrasvasasi urin kedaerah sekitarnya. Pada saat ini terjadi pembentukan prostaglandin E_2 (PGE_2) diikuti peningkatan tromboksan E_2 . Adanya tromboksan E_2 akan menyebabkan vasokonstriksi arteriol aferen sehingga terjadi iskemi ginjal dan diikuti penurunan filtrasi glomerulus. Penelitian yang dilakukan Sheehan dan Davis, 1959 pada kelinci dijumpai kenaikan berat ginjal dan bertambahnya cairan pada pelvis mulai dari minggu pertama obstruksi sampai kurang lebih 4 bulan akan terjadi atrofi Ginjal nampak biru gelap, fibrotik karena iskemia, nekrosis dan infark. serta kistik ^(3,5)

2. Perubahan histologis

Penurunan laju filtrasi glomerulus akan diikuti kenaikan tekanan intra tubulus dan menyebabkan dilatasi dan *flattening* tubulus serta penebalan pada kapsul glomerulus. papil ginjal menjadi gepeng, distorsi ,iskemi lokal dan berakhir nekrosis

Parenkim ginjal akan mengalami penebalan disertai deposisi fibroblas, sel-sel mononuklear dan sel-sel kolagen pada korteks

Pada tikus dengan obstruksi unilateral kelainan secara patologi ditemukan pada minggu pertama dan kembali normal setelah hari ke 60

obstruksi dihilangkan. Nekrosis lengkap akan terjadi kurang lebih 14 hari obstruksi.

3. Perubahan fisiologis

Selama obstruksi perubahan fisiologis yang terjadi berhubungan dengan *renal blood flow* (RBF), *ureteral pressure* (UP) dan *glomerular filtration rate* (GFR). Peningkatan tekanan ureter, ginjal dan menurunnya RBF lama-lama akan menyebabkan atrofi dan nekrosis sel

Pada percobaan menggunakan anjing, setelah obstruksi ureter satu sisi GFR akan menurun menjadi 50 % pada obstruksi 1 jam, 17 % dalam 1 minggu, 14 % dalam 2 minggu dan 3 % dalam 4 minggu. Peneliti lain mengemukakan reversibilitas GFR kembali membaik sekitar 70 % pada release obstruksi 1 minggu, 50 % pada 2 minggu, 30 % pada 4 minggu dan 8 % pada obstruksi 7 minggu ^(3,5)

Kerusakan ginjal yang terjadi disebabkan karena iskemia (penurunan aliran darah ginjal sampai 50-75 %). Selama iskemi konsentrasi hipoxantin pada jaringan ginjal meningkat sampai 10-300 kali Keadaan ini akan merusak ginjal apalagi ginjal juga merupakan organ yang mempunyai konsentrasi feritin dan haem protein yang tinggi sehingga dengan keadaan iskemia ia akan menjadi sensitif sekali terhadap radikal bebas oksigen. Iskemia karena obstruksi akan menyebabkan kerusakan sel lebih berat ^(6,7,8,9,10,11,12,13,14,15) . Iskemia merupakan salah satu faktor atau penyebab terbentuknya radikal bebas oksigen yang menyebabkan kerusakan sel. Faktor lain adalah *reperfusion injury*, radiasi, inflamasi dan faktor kimia. Iskemia yang berkelanjutan akan menyebabkan kerusakan sel karena meningkatnya radikal bebas oksigen dan atau menurunnya perubahan antioksidan. Kerusakan sel terjadi karena pengaruh langsung (*direct damage*) terhadap DNA, protein dan atau lipid dan secara tidak langsung (*secondary damage*) akibat meningkatnya ion Ca^{2+} dan mungkin Fe^{2+} intraseluler. Ca^{2+} dapat merangsang protease dan nuklease yang akan merusak DNA dan sitoskeleton. ATP akan makin berkurang bila iskemia berlanjut keadaan ini akan menyebabkan kerusakan sel yang permanen

D. Manfaat penelitian

- Dengan mengetahui kelainan-kelainan makroskopis dan mikroskopis ginjal pada waktu-waktu tertentu akibat obstruksi total kita dapat memperkirakan penambahan derajat kerusakan ginjal.
- Sebagai salah satu dasar pertimbangan dalam memotivasi penderita untuk segera menjalani tindakan definitif pada kasus dengan obstruksi total.
- Apabila pemberian antioksidan dapat mencegah kerusakan sel secara bermakna pada obstruksi ureter total maka pemberian antioksidan dapat merupakan rangkaian suportif terapi definitif.
- Pemberian antioksidan dapat menurunkan morbiditas akibat kerusakan sel ginjal karena obstruksi ureter total.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Ginjal ^(16,17)

Ginjal merupakan organ retroperitoneal disamping kanan dan kiri kolumna vertebralis, berwarna kecoklatan. Ginjal normal laki-laki dewasa 150 gram dan wanita 135 gram, panjang 10-12 cm, lebar 5-7 cm dan tebal 3 cm. Ginjal kiri terletak sesuai dengan letak vertebra torakal X1 dan vertebra lumbal III, ginjal kanan lebih rendah dari kiri (takahashi, 1994). Ukuran ginjal ditentukan oleh jumlah nefron yang menyusunnya, pada manusia kira-kira terdapat 1,3 juta nefron. Nefron merupakan unit fungsional ginjal yang terdiri dari tubulus dan glomerulus yang terbentang pada korteks (luar) dan medula (dalam).

Glomerulus berdiameter 200 μm dibentuk dari invaginasi kumpulan-kumpulan kapiler kedalam ujung buntu nefron yang melebar (kapsula bowman). Kapiler-kapiler diberi darah oleh arteriol aferen dan dialirkan melalui arteriol eferen yang sedikit lebih kecil. Tubulus kontortus proksimal yang mempunyai panjang 15 mm dengan diameter 55 μm , dindingnya dibentuk oleh suatu lapisan sel-sel yang saling bergandengan. Permukaan sel yang menghadap lumen mempunyai *brush border* karena mempunyai 1 X 0.7 μm mikrovilli yang tidak terhitung jumlahnya. Tubulus kontortus distalis dilapisi epitel lebih rendah dan terdapat sedikit mikrovilli.

Tubulus-tubulus distalis bersatu membentuk tubulus koligens yang panjangnya kira-kira 20 mm dan melewati korteks dan medula ginjal untuk bermuara ke dalam pelvis pada ujung-ujung piramid medula. Pelvis renalis dapat seluruhnya intra renal atau sebagian intra dan ekstra renal, kondisi ini akan mempengaruhi derajat kompensasi ginjal bila terjadi obstruksi.

Vaskularisasi ginjal adalah satu arteri dan vena yang memasuki ginjal melalui hilus pada bagian medial ginjal. Arteri renalis terbagi menjadi arteri segmentalis dan berakhir sebagai arteriol aferen yang merupakan *end artery*. Kapiler-kapiler yang mensuplai tubulus-tubulus dari nefron kortikal membentuk jala peritubuler, arteriol-arteriol eferen dari glomeruli

jukstaglomeruler mengalirkan darah kedalam vasa rekta. Kelenjar limfe sangat banyak dan dialirkan melalui duktus torasikus kedalam sirkulasi venosa dalam toraks. Bagian luar ginjal dilapisi kapsul tipis tetapi kuat bila ginjal mengalami edema atau hidronefrosis, kapsul membatasi pembengkakkan sehingga tekanan jaringan meningkat. Hal ini menurunkan laju filtrasi glomerulus dan diduga merupakan faktor yang memperberat dan memperlama anuria pada *lower nefron syndrome*.

Pada orang dewasa sedang istirahat, ginjal menerima 1,2-1,3 liter darah per menit, korteks menerima jauh lebih banyak daripada medula. Kebutuhan O_2 korteks lebih besar dibandingkan dengan medula. Keadaan ini akan mempengaruhi derajat kerusakan sel pada korteks dan medula bila tekanan O_2 arteri turun kurang 50 % dari normal.

Laju filtrasi glomerulus (GFR = *glomerular filtration rate*) dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk perubahan *renal blood flow* (RBF), perubahan tekanan hidrostatik kapiler glomerulus dan kapsula bowman. RBF dapat dipengaruhi oleh tekanan pelvis renalis yang secara normal sedikit lebih tinggi dari tekanan intraperitoneal dan buli-buli.

B. Obstruksi nefropati

Obstruksi nefropati adalah suatu keadaan yang ditandai dengan rusaknya parenkim ginjal akibat dari obstruksi aliran urin disepanjang traktus urinarius (1,2,3,4). Obstruksi yang terjadi tergantung dari beberapa faktor yaitu akut atau kronik, unilateral atau bilateral, parsial atau komplit dan faktor etiologi yang mendasari yaitu faktor kongenital dan bawaan serta faktor intrinsik dan ekstrinsik (8,9,10,11) Pada obstruksi terjadi kenaikan tekanan intra renal yang diikuti dilatasi bagian proksimal dari obstruksi. Ginjal udem, hemoragis dan dapat terjadi ekstrasvasasi urin kedaerah sekitarnya. Pada saat ini terjadi pembentukan prostraglandin E_2 (PGE_2) diikuti peningkatan tromboksan E_2 . Adanya tromboksan E_2 akan menyebabkan vasokonstriksi arteriol aferen sehingga terjadi iskemi ginjal dan diikuti penurunan filtrasi glomerulus. Penurunan laju filtrasi glomerulus akan diikuti kenaikan tekanan intra tubulus

dan menyebabkan papil ginjal menjadi gepeng, distorsi ,iskemi lokal dan berakhir nekrosis ⁽¹⁸⁾.

Pada obstruksi ureter satu sisi dengan ginjal kontralateral yang sehat, kadar kreatinin dalam batas normal, begitu pula untuk anuria dan gagal ginjal akut jarang terjadi ⁽¹⁾. Pada pemeriksaan urinalisa kadang-kadang disertai adanya leukosit atau eritrosit yang meningkat ⁽¹⁾.

Obstruksi ureter sebelah proksimal dan pielum intrarenal akan menyebabkan kerusakan ginjal lebih cepat.

Perubahan-perubahan yang terjadi akibat dari obstruksi ureter adalah :

1. Perubahan secara umum

Pada awalnya akan terjadi dilatasi ureter dan ginjal dan selanjutnya akan berakhir dengan atrofi. Penelitian yang dilakukan Sheehan dan Davis, 1959 pada kelinci dijumpai kenaikan berat ginjal dan bertambahnya cairan pada pelvis mulai dari minggu pertama obstruksi sampai kurang lebih 4 bulan akan terjadi atrofi ^(19,20)

Ginjal nampak biru gelap, fibrotik karena iskemia, nekrosis dan infark. serta kistik.

2. Perubahan histologis

Akan terjadi dilatasi dan *flattening* tubulus serta penebalan pada kapsul glomerulus. Parenkim ginjal akan mengalami penebalan disertai deposisi fibroblas, sel-sel mononuklear dan sel-sel kolagen pada korteks ^(1,19,20,21)

Pada tikus dengan obstruksi unilateral kelainan secara patologi ditemukan pada minggu pertama ^(7,9,11) dan kembali normal setelah hari ke 60 obstruksi dihilangkan. Nekrosis lengkap akan terjadi kurang lebih 14 hari obstruksi ^(2,4,19).

Tanda-tanda jejas sel yang reversibel adalah gangguan fungsi mitokondria (tampak normal atau sedikit bengkak), gelembung (*blebs*) dipermukaan sel, gambaran mielin didalam sitoplasma atau ekstraseluler, retikulum endoplasma melebar dan seluruh sel membengkak. Tanda-tanda ini akan kembali normal bila iskemia dihilangkan. Jejas sel yang berlanjut misalnya iskemia persisten akan menyebabkan jejas sel

permanen (*irreversible cell injury - cell death*). Selain lisosom ruptur, retikulum endoplasma lisis dan nukleus piknosis, karioreksis, fenomena lain yang secara konsisten menandai kerusakan permanen ini adalah disfungsi mitokondria dan gangguan fungsi membran. Perubahan-perubahan sel tersebut secara sederhana dapat dilihat dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali atau menggunakan mikroskop elektron untuk melihat perubahan ultrastruktur sel.

3. Perubahan fisiologis

Selama obstruksi perubahan fisiologis yang terjadi berhubungan dengan *renal blood flow* (RBF), *ureteral pressure* (UP) dan *glomerular filtration rate* (GFR). Peningkatan tekanan ureter, ginjal dan menurunnya RBF lama-lama akan menyebabkan atrofi dan nekrosis sel

Pada percobaan menggunakan anjing, setelah obstruksi ureter satu sisi GFR akan menurun 43 % pada obstruksi 1 jam, 17 % dalam 1 hari, 14 % dalam 2 minggu dan 3 % dalam 4 minggu ^(2,4,22). Pada penelitian lain pada kelinci dikatakan bahwa obstruksi 2-3 minggu akan menyebabkan kematian sel 100 % ⁽⁹⁾. Peneliti lain mengemukakan bahwa fungsi ginjal lebih baik pada penghilangan setelah obstruksi 2 minggu dengan penundaan nefrektomi ginjal yang baik pada sisi kontralateral dibandingkan nefrektomi segera setelah obstruksi dihilangkan. ⁽⁴⁾ Peneliti lain mengemukakan reversibilitas GFR 70 % pada release obstruksi 1 minggu, 70 % pada 2 minggu, 30 % pada 4 minggu dan 8 % pada obstruksi 7 minggu ^(2,4,22).

C. Radikal bebas , antioksidan dan pengaruhnya pada iskemia jaringan

Sel normal secara rutin beradaptasi untuk memberi reaksi terhadap tantangan dan tekanan yang selalu berubah. Bila batas kemampuan adaptasi tersebut dilampaui akan timbul suatu keadaan yang disebut jejas sel (*cell injury*). Jejas sel dapat bersifat sementara (*reversibel*) atau bahkan kematian sel (*cell death = irreversible cell injury*) bila rangsangan menetap atau makin berat. Pola kematian sel akibat jejas dapat berupa nekrosis atau

apoptosis. Nekrosis koagulasi (*coagulation necrosis*) umumnya terjadi karena faktor eksternal seperti faktor iskemia dan kimia sedangkan apoptosis terjadi karena aktivasi program kematian sel yang dikontrol secara internal (*internally controlled suicide program*)

Mekanisme-mekanisme biokimia yang bertanggung jawab terhadap jejas sel sampai kematian sel sangat kompleks. Banyak faktor penyebab jejas sel dengan mekanisme berbeda namun respon sel secara prinsip ditentukan oleh banyak faktor diantaranya adalah jenis, lama, dan beratnya rangsangan serta jenis, keadaan dan kemampuan sel untuk beradaptasi. Penyebab jejas sel tersebut secara umum dapat digolongkan dalam beberapa kelompok, diantaranya adalah iskemia. Hipoksi yang terjadi dapat lebih berat sehingga akan menyebabkan jejas atau kematian sel. Pada ginjal hipoksia akan terjadi bila tekanan O_2 arteri turun 50 % dari normal. Selain itu terdapat faktor fisik, kimia, obat, infeksi serta malnutrisi.

Iskemia merupakan salah satu faktor atau penyebab terbentuknya radikal bebas oksigen yang menyebabkan kerusakan sel. Faktor lain adalah *reperfusion injury*, radiasi, inflamasi dan faktor kimia. Iskemia yang berkelanjutan akan menyebabkan kerusakan sel karena meningkatnya radikal bebas oksigen dan atau menurunnya perubahan antioksidan. Kerusakan sel terjadi karena pengaruh langsung (*direct damage*) terhadap DNA, protein dan atau lipid dan secara tidak langsung (*secondary damage*) akibat meningkatnya ion Ca^{2+} dan mungkin Fe^{2+} intraseluler. Ca^{2+} dapat merangsang protease dan nuklease yang akan merusak DNA dan sitoskeleton. ATP akan makin berkurang bila iskemia berlanjut keadaan ini akan menyebabkan kerusakan sel yang permanen (*irreversible cell injury – cell death*). Sebaliknya bila oksigenasi segera dipulihkan jejas sel yang reversibel akan kembali normal.

Seperti telah dibahas dalam tinjauan kepustakaan bahwa obstruksi nefropati pada akhirnya berakibat kerusakan ginjal (atrofi atau nekrose koagulatif) karena iskemia (penurunan aliran darah ginjal sampai 50-75 %). Selama iskemi konsentrasi hipoxantin pada jaringan ginjal meningkat sampai

10-300 kali ^(6,7,14,15), keadaan ini akan merusak ginjal apalagi ginjal juga merupakan organ yang mempunyai konsentrasi feritin dan haem protein yang tinggi sehingga dengan keadaan iskemia ia akan menjadi sensitif sekali terhadap radikal bebas oksigen. Iskemia karena obstruksi akan menyebabkan kerusakan sel lebih berat juga dipengaruhi oleh jejas reperfusi (*reperfusion injury*). Jejas reperfusi terjadi setelah oksigenase kembali normal akibat radikal bebas oksigen yang meningkat yaitu maksimal 2 jam setelah obstruksi dihilangkan⁽⁹⁾

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan (*unpaired electron*) pada orbit luarnya ^(14,16,18,26,27). Elektron yang tidak berpasangan tersebut cenderung untuk membentuk pasangan dan ini terjadi dengan menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal bebas baru (terjadi reaksi rantai atau *chain reaction*).

Bila terdapat jumlah energi yang cukup besar misalnya karena radiasi, air dapat mengalami pembelahan homolitik menjadi :

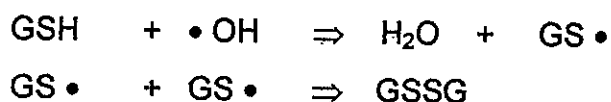


Elektron yang tidak berpasangan cenderung untuk membentuk pasangan dan

ini terjadi dengan menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal baru misalnya :



Radikal bebas lebih berbahaya dibanding dengan oksidan yang bukan radikal. Hal ini disebabkan karena kedua sifat radikal yaitu reaktifitas yang tinggi dan kecenderungannya membentuk radikal baru lagi, sehingga terjadilah reaksi rantai (*chain reaction*). Reaksi rantai tersebut baru berhenti apabila radikal bebas itu dapat diredam (*quenched*) misalnya reaksi radikal hidroksil dengan glutathion (GSH), reaksi akan berhenti setelah dua radikal glutathion (GS) bereaksi membentuk glutathion teroksidasi (GSSG).



Sifat radikal bebas mirip dengan oksidan (senyawa penerima elektron atau *electron acceptor*) yaitu terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron. Keadaan inilah yang menyebabkan radikal bebas digolongkan dalam oksidan namun perlu diketahui bahwa tidak semua oksidan adalah radikal bebas. Daya rusak radikal bebas jauh lebih besar dibandingkan dengan oksidan yang bukan radikal bebas dan karena reaktivitasnya yang tinggi radikal bebas tidak stabil dan berumur sangat pendek sehingga sulit dideteksi kecuali dengan metoda khusus seperti EPR (*electron paramagnetic resonance*).

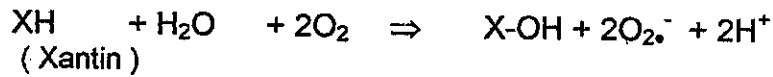
Senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen compounds*) merupakan senyawa yang berasal dari oksigen yang diperlukan oleh semua organisme aerobik termasuk manusia untuk menghasilkan ATP, yaitu suatu senyawa yang merupakan sumber energi melalui fosforilasi oksidatif di mitokondria. Pada proses tersebut terjadi reduksi O_2 menjadi H_2O dengan pengalihan 4 elektron ^(6,9,10).

Dalam keadaan tertentu pengalihan elektron tersebut berjalan kurang sempurna sehingga terjadi senyawa-senyawa oksigen reaktif yang sangat berbahaya yang akan merusak sel apabila tidak diredam. Dalam keadaan normal, dengan sistim proteksi tubuh yang baik dapat meredam oksidan-oksidan tersebut dengan memproduksi antioksidan yang memadai. Proses ini terjadi secara terkontrol dan dianggap sebagai suatu "*controlled internal radiation*". Bila keseimbangan ini terganggu timbullah istilah klinik disebut jejas oksidatif (*oxydative stress*) ^(6,7,8,13)

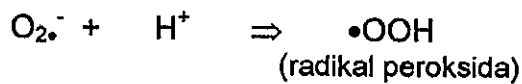
Oksidan yang terlibat dalam berbagai proses patologis sebagian besar justru berasal dari proses-proses biologis alami dan melibatkan senyawa-senyawa oksigen reaktif, sebagian diantaranya berbentuk radikal seperti radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$), radikal peroksil ($\bullet\text{OOH}$) dan ion superoksida ($\text{O}_2^- \bullet$) dan

Gambar.1 Proses terbentuknya radikal superoksida pada iskemia jaringan. Adaptasi dari : Askandar T, Ari S . **Radikal bebas dan diabetes (aspek klinik – aspek terapi)** dalam : Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas Pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan. Perhimpunan Spesialis Bedah Syaraf Indonesia RSUD dr Sutomo FK Unair Surabaya, 4 november 1995.hal. 1-22

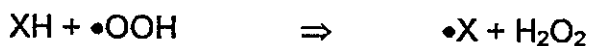
Xantin dehidrogenase berubah menjadi xantin oksidase dan peptida dan mengkatalisa reaksi sebagai berikut :



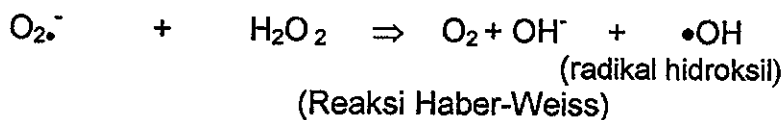
Perubahan ini tidak reversibel, apabila pasokan oksigen kembali normal, terbentuklah ion peroksida yang justru dapat merusak jaringan (jejas reperfusi).



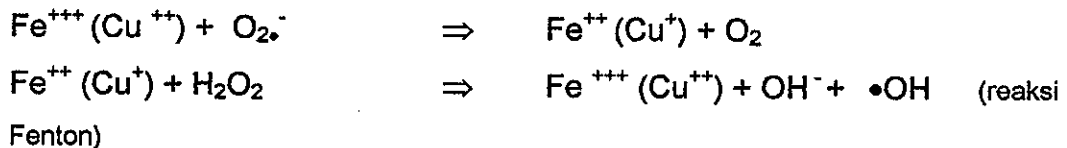
Seperti halnya radikal lain, radikal inipun sangat reaktif dan akan membentuk radikal baru serta H_2O_2



Ion superoksida akan sangat berbahaya apabila terdapat bersamaan dengan H_2O_2 karena akan membentuk radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$)



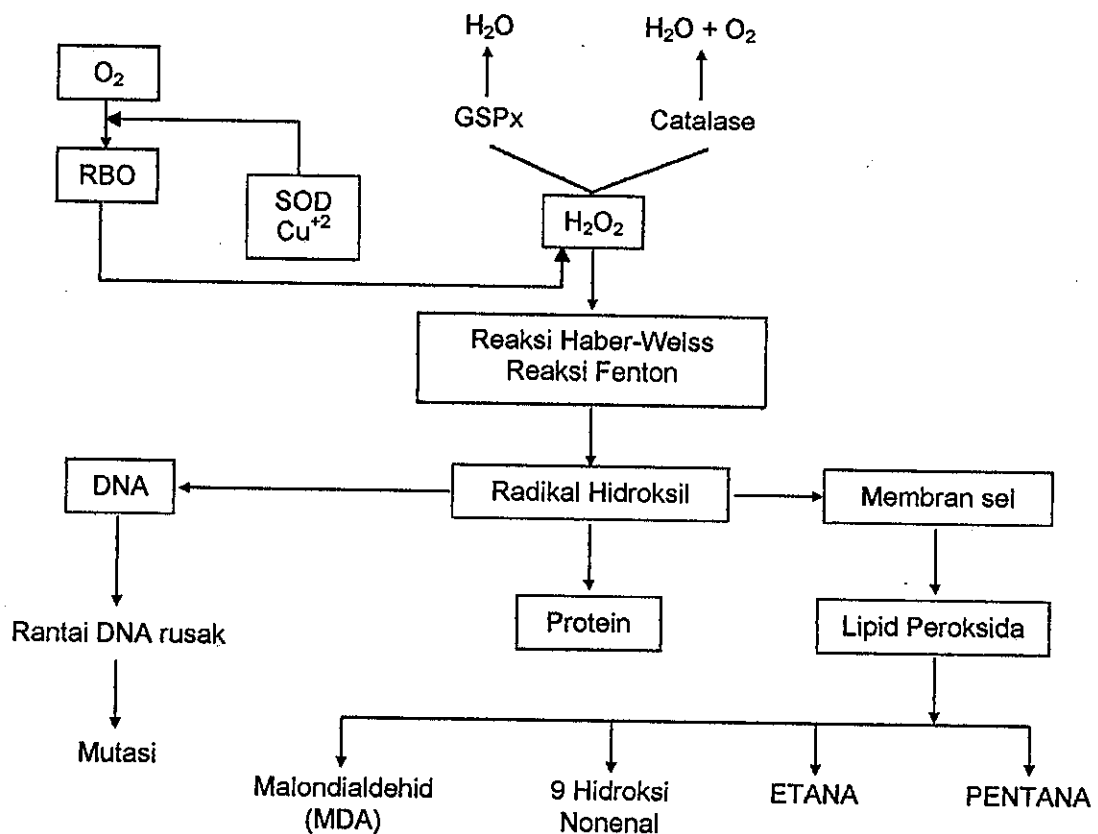
Pada Reaksi Haber-Weiss diperlukan ion Fe^{+++} atau Cu^{++} dan terjadi melalui dua tahap, yaitu :



Radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena reaktifitasnya sangat tinggi. Oleh karena itu dampak negatif radikal bebas yang dibahas sebagai contoh adalah radikal hidroksil. Radikal hidroksil dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu : (6,7,8,9,10,11)

1. Asam lemak khususnya asam lemak tak jenuh (PUFA = *polyunsaturated fatty acid*) yang merupakan komponen penting penyusun membran sel.

Komponen terpenting membran sel ini adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh ini (asam-asam linoleat, linolenat dan arakidonat) sangat rawan terhadap serangan-serangan radikal bebas, terutama radikal hidroksil. Dengan asam lemak radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan peroksida lipid.



Gambar.2 Tahapan terbentuknya radikal superoksida sampai terjadinya kerusakan pada tingkat membran sel.

Adaptasi dari : Askandar T, Ari S . **Radikal bebas dan diabetes (aspek klinik – aspek terapi)** dalam : Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas Pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan. Perhimpunan Spesialis Bedah Syaraf Indonesia RSUD dr Sutomo FK Unair Surabaya, 4 november 1995.hal. 1-22

Akibat akhir dari rantai reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain berbagai macam aldehyd seperti malondialdehida, F_2 isoprostanes

(PGF α), 9 hidroksinonenal serta bermacam-macam hidrokarbon seperti etana (C₂H₆) dan pentana (C₅H₁₂). Produk akhir inilah yang merupakan petunjuk adanya radikal bebas dan hal ini hanya dapat diketahui dengan metode pemeriksaan khusus seperti EPR. Radikal bebas superoksida menginaktifkan EDRF (*endotel derived relaxing factor*) sehingga dapat menurunkan RBF dan filtrasi glomerulus. Dapat pula terjadi ikatan silang (*cross-linking*) antara dua rantai asam lemak atau antara asam lemak dan rantai peptida (protein) yang timbul karena reaksi dua radikal :



Semua ini menyebabkan kerusakan parah membran sel sehingga membahayakan kehidupan sel.

2. DNA Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai perubahan pada perangkat genetik sel (DNA) yang antara lain berupa : hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan tidak terlalu parah masih bisa diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA (*DNA repair system*), kerusakan yang terlalu parah tidak dapat diperbaiki dan replikasi sel akan terganggu. Dalam perbaikan DNA ini sering justru menimbulkan mutasi, karena dalam proses perbaikan DNA cenderung membuat kesalahan (*error prone*). Apabila mutasi ini mengenai gen-gen tertentu, maka mutasi tersebut dapat menimbulkan kanker.

3. Protein memegang berbagai peran penting seperti enzim, reseptor, antibodi dan pembentuk matriks serta sitoskeleton. Oksidan dapat merusak protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam-asam amino yang menyusun protein. Diantara asam-asam amino penyusun protein yang paling rawan adalah sistein. Sistein ini mengandung gugusan sulfhidril (SH) yang paling peka terhadap serangan radikal bebas seperti radikal hidroksil :

Pembentukan ikatan disulfida (-S-S-) menimbulkan ikatan intra atau antar molekul sehingga protein kehilangan fungsi biologisnya (misalnya enzim kehilangan aktifitasnya)

Dalam pengertian kimia, senyawa-senyawa antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron (*electron donors*) ^(13,14,15,20). Namun dalam arti biologis pengertian antioksidan lebih luas yaitu merupakan senyawa-senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam⁽⁸⁾

Antioksidan ditinjau dari mekanisme kerjanya terhadap radikal bebas ^(6,7,15,24) yaitu :

a. Antioksidan pencegah (*preventive anti oxidants*)

Pada dasarnya tujuan antioksidan ini mencegah terjadinya radikal hidroksil seperti telah dijelaskan sebelumnya bahwa untuk membentuk radikal hidroksil diperlukan tiga komponen yaitu logam transisi Fe atau Cu, H_2O_2 dan O_2 . Agar reaksi fenton dan Haber Weiss tidak terjadi, maka harus dicegah keberadaan ion Fe atau Cu bebas. Untuk hal ini berperan beberapa protein penting yaitu transferin atau feritin untuk mencegah Fe^{++} dan seruloplasmin atau albumin untuk mencegah Cu. Penimbunan O_2 dicegah oleh enzim superoksida dismutase (SOD) yang mengkatalisis reaksi dismutasi O_2 dan penimbunan H_2O_2 dicegah oleh enzim katalase dan peroksidase. (*gambar.2*) Diantara berbagai peroksidase yang paling penting adalah glutathione peroksidase (GSPx). Apabila radikal hidroksil masih saja terbentuk, masih ada sarana lain untuk meredamnya, tanpa memberi kesempatan untuk memulai reaksi rantai dengan melibatkan senyawa-senyawa yang mengandung gugusan sulfhidril seperti glutathione dan sistein.

b. Antioksidan pemutus rantai (*chain breaking anti oxidants*)

Dalam kelompok antioksidan ini termasuk vitamin E (tokoferol), asam askorbat (vitamin C), β karoten dan senyawa glutathione dan sistein. Vitamin E dan β karoten bersifat lipofilik sehingga dapat berperan pada membran sel untuk mencegah peroksidase lipid. Sebaliknya vitamin C, glutathione dan sistein bersifat hidrofilik yang berperan dalam sitosol^(8,9,10,25)

ascorbic acid + 2O₂•⁻ + 2H⁺ ⇒ H₂O₂ + DHA (semi-dehidroaskorbat)

DHA + 2H⁺ ⇒ ascorbic acid

Fe³⁺ + ascorbic acid ⇒ Fe²⁺ + Vit C + 2H⁺

Vit C + Fe³⁺ ⇒ DHA + Fe²⁺

H₂O₂ + Fe²⁺ ⇒ Fe³⁺ + OH⁻ + •OH

H₂O₂ ⇒ H₂O + O₂

H₂O₂ + 2GSH ⇒ GSSG + 2H₂O

Toc-H + O₂•⁻ ⇒ H₂O + Toc•

Toc• + Ascorbic acid ⇒ Toc OH + DHA

Asam askorbat/vitamin C akan bereaksi dengan radikal bebas ion superoksida dan menghasilkan DHA/semidehidroaskorbat yang nantinya akan membentuk asam askorbat kembali. Hidrogen peroksida yang terbentuk dari reaksi tersebut diatas akan diredam / dihancurkan oleh selenium dan seng yang merupakan bagian penting dari enzim glutathion peroksidase (Gpx) yang dihasilkan oleh SOD / superoksida dismutase dalam sitosol dan mitokondria. Vitamin E sendiri berfungsi untuk meredam radikal bebas ion superoksida sehingga menghasilkan radikal vitamin E yang tidak reaktif dan dalam reaksi selanjutnya radikal vitamin E yang tidak reaktif ini akan bereaksi kembali dengan asam askorbat menghasilkan vitamin E.

Food and Nutrition board di Amerika sejak tahun 1941 mengeluarkan secara berkala tentang jumlah vitamin dan makanan lain perhari yang diperkirakan cukup untuk mempertahankan kesehatan (*recommended dietary allowances*, RDA). Menurut *food and drug administration* (FDA) di amerika serikat, sediaan multivitamin digolongkan sebagai suplementasi makanan atau untuk profilaksis bila mengandung 50-150 % US RDA (kecuali untuk vitamin D dan asam folat yang tidak boleh melebihi US RDA).⁽²⁴⁾

β karoten ^(9,12,15,24)

Merupakan prekursor vitamin A merupakan salah satu bentuk vitamin larut dalam lemak yang dapat mempengaruhi permeabilitas atau transport pada berbagai membran sel dan bekerja sebagai oksidator atau reduktor, koenzim atau inhibitor enzim. Sumber vitamin A selain nabati juga terdapat pada sayuran hijau atau kuning dan buah-buahan seperti wortel, pepaya dan tomat.^(15,24)

Vitamin β karoten bersifat lipofilik, peredam *single oxygen* yang paling kuat bekerja terutama pada PO_2 rendah. Karena bersifat lipofilik sehingga dapat berperan pada membran sel untuk mencegah peroksidase lipid, selain itu juga berfungsi ,memproteksi hormon dan retikulum endoplasmik.^(9,10)

Vitamin C ^(9,12,15,24)

Asam askorbat (vitamin C), larut dalam air merupakan antioksidan yang banyak dijumpai pada buah-buahan asam, kentang, tomat dan sayuran hijau. Dia dapat menangkap radikal bebas dan molekul oksigen yang reaktif

Asam askorbat penting dalam pembentukan substansi antara sel dan jaringan kolagen. Selain itu ia dapat juga berfungsi sebagai antioksidan intraseluler yaitu pemecah rantai yang lipofilik, bereaksi langsung dengan superoksida dan *singlet oxygen* serta membentuk kembali vitamin E dari tocopheroxy radical.

RDA vitamin C berkisar 65 mg untuk bayi dan meningkat sampai kira-kira 60 mg pada anak dan dewasa. Dosis besar atau mega dose (1-1,5 g/hari) dilaporkan dapat meningkatkan kadar IgA, IgM dan komponen komplemen C_3 .

Vitamin E ^(9,12,15,24)

Vitamin E merupakan vitamin esensial sehingga harus dikonsumsi dari makanan. Vitamin E adalah nama generik yang mencakup sejumlah zat yang memperlihatkan aktifitas biologis serupa d-alfa tokoferol. Diketahui 8 zat yang memiliki aktifitas vitamin E, d alfa tokoferol memiliki biopotensi setinggi

dan aktifitasnya dijadikan standar pengukuran bentuk-bentuk lain. Tahun 1950 an dilaporkan fungsi vitamin E sebagai antioksidan pada hewan dan sejak tahun 1980 an diketahui dapat mengurangi peroksidase lipid pada manusia dalam dosis yang lebih tinggi dari RDA.

Kira-kira 20-40 persen vitamin E diserap dari diet normal, banyak faktor mempengaruhi penyerapan dan kebutuhan akan vitamin E termasuk kemampuan individu menyerap lemak. Pada umumnya dibutuhkan konsumsi vitamin E 10 kali lebih tinggi untuk meningkatkan kadar plasma alfa toko ferol dua kali lipat. Vitamin E (toc H) sebagai antioksidan lipofilik berperan pada tekanan oksigen tinggi untuk memecah rantai radikal lipid (L) dan radikal peroksil (LOO) yang menghasilkan radikal vitamin E (toc h). Selain itu dapat pula bereaksi langsung dengan superoksida dan *single oxygen* untuk proteksi komponen-komponen dalam sel dengan titik tangkap pada DNA, lisosom , mitokondria dan retikulum endoplasmik.

Radikal vitamin E tersebut tidak terlalu reaktif meskipun demikian radikal vitamin E tetap akan dihilangkan melalui reaksi-reaksi intramolekul sehingga menghasilkan senyawa non radikal, bereaksi dengan vitamin C (asc-H₂) menghasilkan radikal vitamin C (Asc•⁻). Kemudian dapat juga dihilangkan melalui reaksi dismutasi menghasilkan vitamin C dan dehidroasam askorbat (DHAA). Radikal vitamin E dapat juga bereaksi dengan glutathion atau sistein yang terdapat dalam sitosol.

Committee for the seventh edition (1968) menetapkan RDA vitamin E setara dengan 20 mg (30 IU) d alfa tokoferol dan jumlah tersebut sulit terpenuhi dalam diet normal tanpa suplementasi. Edisi berikutnya RDA ditetapkan separuhnya yaitu 10 mg untuk pria dan 8 mg untuk wanita dewasa. ^(8,9)

Sumber vitamin E terpenting dalam diet adalah minyak nabati, minyak kembang matahari, kacang dan biji-bijian. Untuk bekerja sebagai antioksidan dibutuhkan kadar 10 kali lebih tinggi dari RDA . Jumlah ini sulit diperoleh melalui diet, terutama dalam diet rendah lemak sehingga perlu dilakukan pemberian suplementasi. *Bendich* dan *mavhalin* melaporkan data-data dari studi penelitian hewan memperlihatkan bahwa toksisitas vitamin E rendah

dan tidak bersifat mutagenik, karsinogenik ataupun teratogenik. Pada manusia hanya sedikit efek samping dilaporkan bahkan pada dosis setinggi 3200 .mg./hari (3200 IU/hari) ⁽²⁶⁾

Selenium dan seng

Selenium selain suatu unsur runutan (*trace element*) yang diperlukan oleh tubuh juga merupakan bagian penting dari enzim glutation peroksidase (Gpx) yang melindungi membran sel dengan cara menghancurkan hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh SOD (superoksida dismutase) dalam sitosol dan mitokondria. (gambar.2) Selenium penting untuk enzim Gpx agar enzim ini dapat berfungsi secara normal sebagai antioksidan dan diketahui dapat mempertahankan integritas otot dan sel darah merah.

Glutation peroksidase dengan selenium sebagai komponen integralnya melengkapi garis pertahanan kedua untuk menghancurkan hidrogen peroksidase setelah vitamin E yang merupakan garis pertahanan pertama terhadap peroksidase fosfolipid sel dan membran subseluler. Dengan demikian selenium dan vitamin E mempunyai efek sinergetik dalam memerangi radikal bebas dan kerusakan sel.

Seng (zinc) Copper (Cu) dan manganese (Mn) meruoakan komponen SOD yang terdapat dalam sitosol dan mitokondria. Enzim ini merubah superoksida menjadi hidrogen peroksida yang selanjutnya dinetralisir oleh katalase dan gpx. (gambar.2)

BAB III KERANGKA TEORI

OBSTRUKSI URETER TOTAL

↓
OBSTRUKSI GINJAL

↓
O₂ ↓

↓
ISKEMIA

↓
ATP ↓

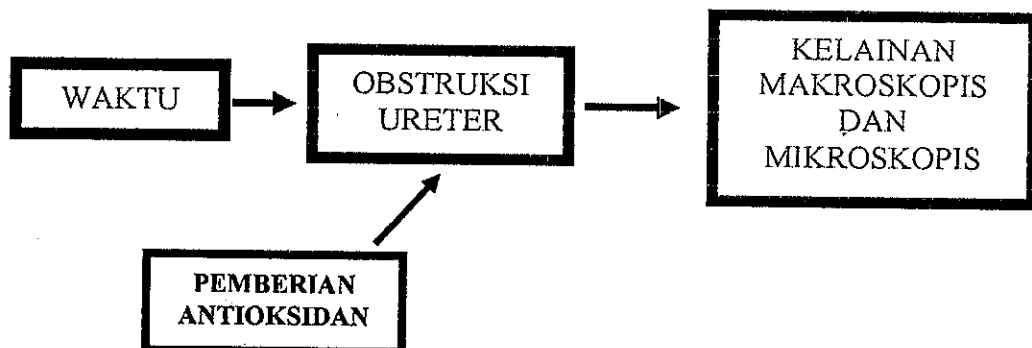
↓
RADIKAL BEBAS OKSIDAN ↑

antioksidan

↓
KERUSAKAN GINJAL

Makroskopis
Mikroskopis
Fungsional
Laboratoris

KERANGKA KONSEP



BAB IV

HIPOTESIS

Berdasarkan kerangka teori yang sudah diajukan dapat diajukan hipotesis sebagai berikut :

1. Ada perbedaan kelainan makroskopis dan mikroskopis antara kelompok perlakuan yang mendapat antioksidan dan tidak.
2. Ada pengaruh waktu terhadap terjadinya kelainan obstruksi ginjal pada kelompok perlakuan yang mendapat antioksidan dan tidak.

BAB V

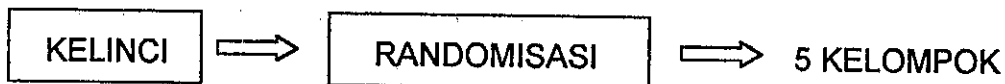
METODE PENELITIAN

A. LINGKUP PENELITIAN:

- a. Ilmu : Bedah Urologi, Patologi Anatomi.
- b. Tempat : UPHP – UGM (Unit Pengembangan Hewan Percobaan – Universitas Gajah Mada).
- c. Waktu : Mulai bulan Januari 2003 s/d April 2003.

B. JENIS PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *"The Post Test Only Control Group Design"* menggunakan hewan coba kelinci.



Kelompok I : kelompok kontrol

Kelompok II : Diberi Antioksidan dan dilakukan ligasi selama 7 hari

Kelompok III : Diberi Antioksidan dan dilakukan ligasi selama 14 hari

Kelompok IV: Tanpa Antioksidan dan dilakukan ligasi selama 7 hari

Kelompok V: Tanpa Antioksidan dan dilakukan ligasi selama 14 hari

C. SAMPEL PENELITIAN:

Sampel dalam penelitian ini adalah kelinci putih jantan dengan:

Kriteria inklusi :

- Umur 3 bulan
- berat badan rata-rata 1,5 kg

Kriteria eksklusi:

- Kelinci muntah atau diare selama perlakuan.

BESAR SAMPEL

Besar sampel dalam penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus penentuan besar sampel :

$$(N-1) (k-1) \geq 15$$

k = Jumlah perlakuan (5 kelompok perlakuan)

N = Jumlah pengulangan = jumlah sampel per kelompok
= 5 ekor/ kelompok perlakuan

Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 30 ekor kelinci dengan 6 ekor kelinci pada masing-masing kelompok.

D. IDENTIFIKASI VARIABEL

VARIABEL INDEPENDENT

Waktu terjadinya kelainan makroskopis dan mikroskopis tsb dihitung mulai dilakukan pengikatan, data nominal.

VARIABEL PERANTARA

Obstruksi Ureter yaitu terjadinya sumbatan secara total karena dilakukan pengikatan pada ureter binatang coba, data nominal.

VARIABEL DEPENDENT:

Kelainan makroskopis dan mikroskopis yang terjadi pada ureter dan meliputi:

Kelainan makroskopis :

Ginjal udem (hidronefrosis) = ditimbang , data rasio

Kelainan mikroskopis :

Destruksi glomerulus dan tubulus.

Nekrosis ginjal (korteks,medula serta tubulus dan pembuluh darah) , data nominal.

E. ALAT-ALAT PENELITIAN

- Formalin 10 %, haematoxyllin eosin
- Ketaminhidroklorid 1-2 mg/kgBB (IM),
- Obat yang mengandung kombinasi antioksidan β karoten 10000 IU, vitamin C 250 mg, vitamin E 200 IU, Seng (II) sulfat 20 mg dan selenium 30 mg

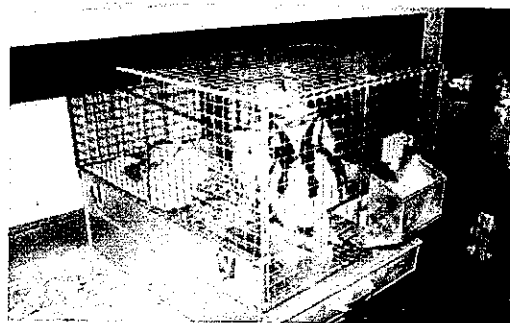
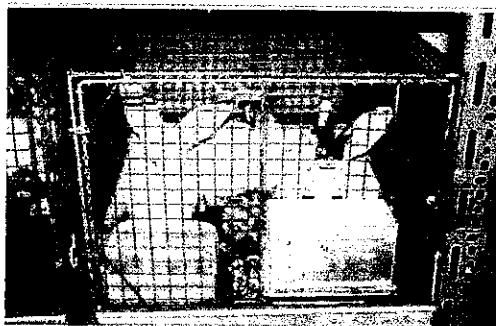
Dosis 0.07 kali dosis orang dewasa dan diberikan secara peroral dalam bentuk suspensi.

- Pot plastik, objek glas, mikroskop cahaya pembesaran 40 X dan 100 X
- Timbangan untuk menimbang ginjal

F. CARA KERJA.

Kelinci putih yang berumur 3 bulan dengan berat badan rata-rata 1,5 kg sebanyak 30 ekor dibagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Makan diberikan 2 kali sehari (pagi dan sore) secara bergantian, merata.

Kelinci dilakukan aklimatisasi selama 7 hari untuk mendapatkan berat rata-rata 1,5 kg. Setelah semua kelinci ditimbang dilakukan uji *one sample T test* terhadap 1,5 kg kemudian dilakukan perlakuan



Sampel ginjal diperoleh melalui nefrektomi sesudah perlakuan, ditimbang dan setelah itu masing-masing sampel dimasukkan dalam pot plastik berisi formalin 10 % (1:10). Sampel ginjal secara keseluruhan dikirim ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan patologi anatomi dengan mikroskop cahaya.

G. DROP OUT

- Kelinci sakit atau mati selama penelitian
- Terdapat kelainan pada ureter berupa elongasi, hidroureter, *sludge*/ batu, infeksi, tumor.
- Ginjal atau ginjal kontralateral rusak. (dengan melihat kadar ureum kreatinin pre dan post operasi)

H. PROSEDUR OPERASI

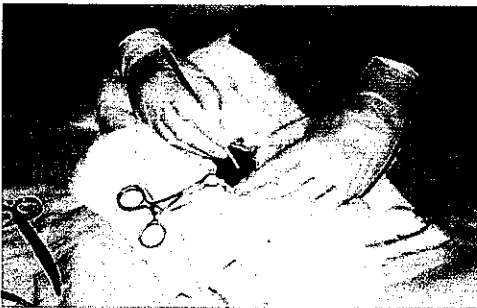
Teknik operasi



Terlentang dalam Ketamin IM
Desinfeksi daerah supra simfisis



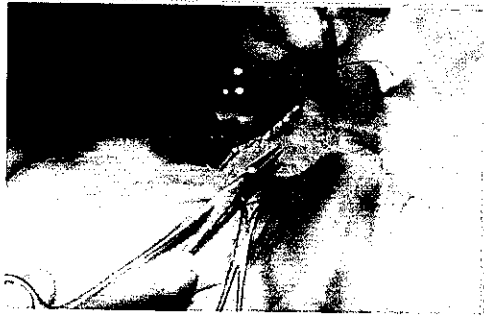
Persempit dengan duk steril



Insisi Median Supra simfisis



Identifikasi buli (berwarna merah bening)
Identifikasi ureter distal tepat disisi posterior buli.



Tutup lapisan abdomen jahitan
jelujur.

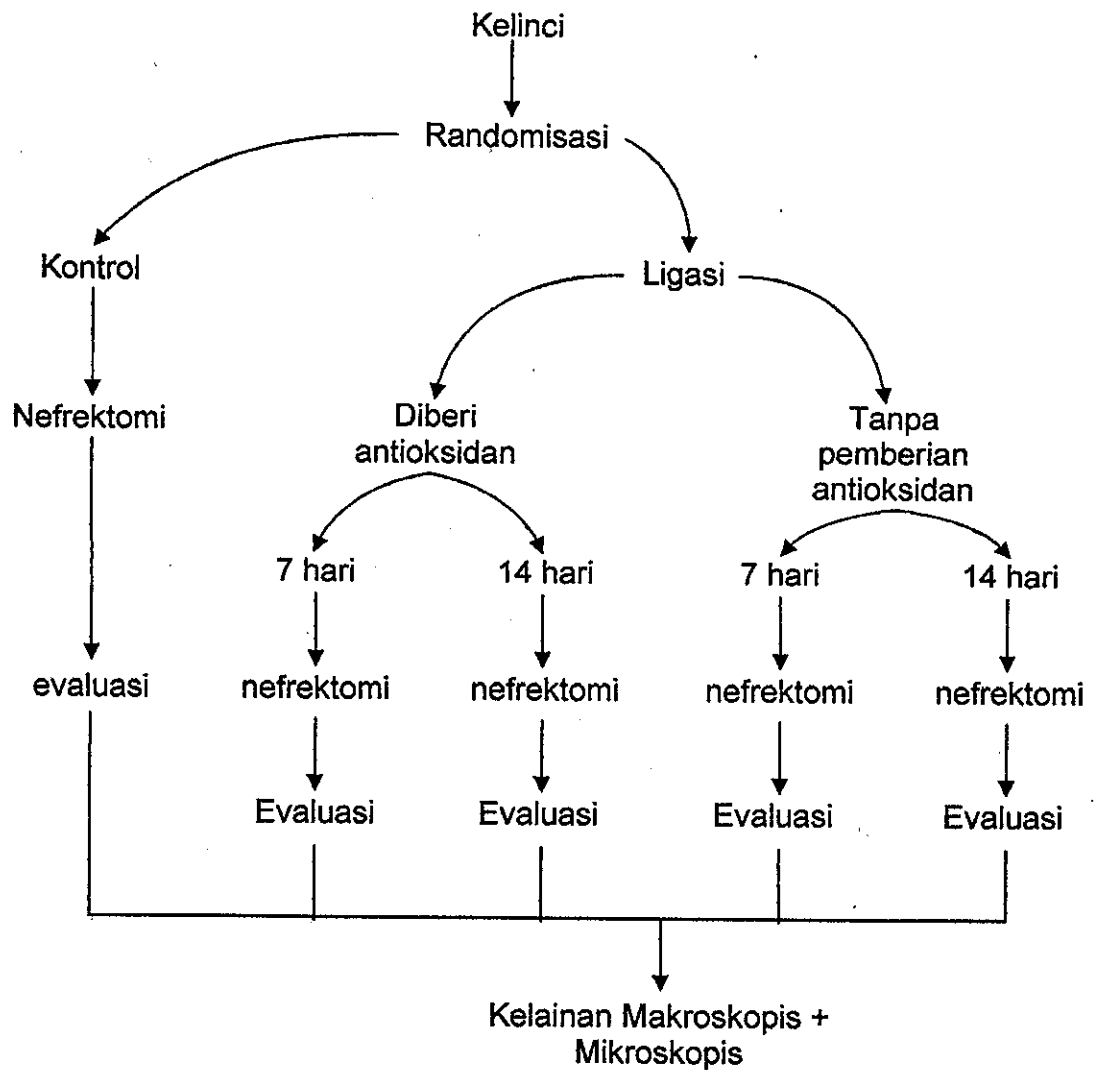


Operasi selesai.

Semua kelinci percobaan di lakukan pemeriksaan darah – ureum dan kreatinin sebelum dan sesudah operasi. Anestesi umum dilakukan dengan pemberian ketaminhidroklorid 1-2 mg/kgBB (IM). Dilakukan insisi supra simfisis, identifikasi buli yang dibiarkan terisi dan kemudian identifikasi ureter. Ligasi ureter distal sebelah kiri. Luka operasi ditutup dan dievaluasi. Kemudian setelah batas waktu yang ditentukan pada kelompok perlakuan dilakukan operasi ulang, ginjal dinilai. Ginjal ditimbang dan sesudah itu dimasukkan dalam pot plastik difiksir dengan formalin 10 % dengan perbandingan 1:10 dan selanjutnya dikirim ke laboratorium patologi anatomi untuk pemeriksaan mikroskop cahaya.

Antibiotik profilaksis tidak diberikan sebelum, selama dan sesudah prosedur operasi karena operasi untuk melakukan ligasi ureter dianggap sebagai operasi steril. Pemberian antioksidan diberikan sesuai kelompok perlakuan

I. ALUR PENELITIAN



J. VARIABEL-VARIABEL LAIN

- Hidronefrosis : dilatasi renal pelvis dan kaliks akibat obstruksi aliran urin ; ditimbang menggunakan timbangan
- Dilatasi pembuluh darah : pembuluh darah nampak melebar berisi eritrosit (normal tidak tampak)
- Destruksi glomerulus : struktur pembuluh darah glomerulus hancur disertai penebalan kapsul glomerulus.
- Destruksi tubulus : struktur epitel pelapis tubulus hancur dan tubulus mengalami dilatasi.

- e. Nekrosis : kerusakan sel secara permanen (struktur sel hilang) yang dapat mengenai korteks atau medula ginjal termasuk struktur-struktur yang ada didalamnya (seperti glomerulus, tubulus, pembuluh darah dan lain-lain)

Nekrosis atau destruksi yang negatif (-) sampai dengan positif 4 (+++++) hanya merupakan persetujuan untuk menyatakan derajat kerusakan misalnya :

Derajat nekrosis :

- a. Nekrosis negatif (-) : tidak ditemukan adanya kerusakan
- b. Nekrosis + : ditemukan adanya kerusakan antara 1-25 %
- c. Nekrosis ++ : ditemukan adanya kerusakan antara 26-50 %
- d. Nekrosis +++ : ditemukan adanya kerusakan antara 51-75 %
- a. Nekrosis ++++ : ditemukan adanya kerusakan antara 76-100 %

K. ANALISA DATA.

Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Perbedaan antar kelompok perlakuan dianalisa dengan menggunakan uji chi-square (X^2). Untuk data-data numerik dilakukan analysis of Varians (ANOVA) dilanjutkan dengan post Hoc test Bonferroni. Semua analisa dilakukan dengan bantuan komputer menggunakan program SPSS 10.05 for win. Perbedaan dinyatakan bermakna bila didapatkan harga $p \leq 0,05$

BAB VI HASIL PENELITIAN

Derajat destruksi ginjal dan ureter berdasarkan gambaran PA disajikan dalam bentuk :

- a. Nekrosis negatif (-) : tidak ditemukan adanya kerusakan
- b. Nekrosis + : ditemukan adanya kerusakan antara 1-25 %
- c. Nekrosis ++ : ditemukan adanya kerusakan antara 26-50 %
- d. Nekrosis +++ : ditemukan adanya kerusakan antara 51-75 %
- e. Nekrosis ++++ : ditemukan adanya kerusakan antara 76-100 %

Tabel 1. Destruksi ginjal dan ureter pada kelompok kontrol dan perlakuan

KELOMPOK	Tanpa Kerusakan	Kerusakan 1 % - 25 %	Kerusakan 26 % - 50 %	Kerusakan 51 % - 75 %	Jumlah
Kontrol	5	1	-	-	6
Ligasi 7 hari dengan antioksidan	2	3	1	-	6
Ligasi 7 hari tanpa antioksidan	-	4	1	1	6
Ligasi 14 hari dengan antioksidan	2	3	1	-	6
Ligasi 14 hari tanpa antioksidan	-	-	3	3	6
Total Kelompok	9	11	6	4	36

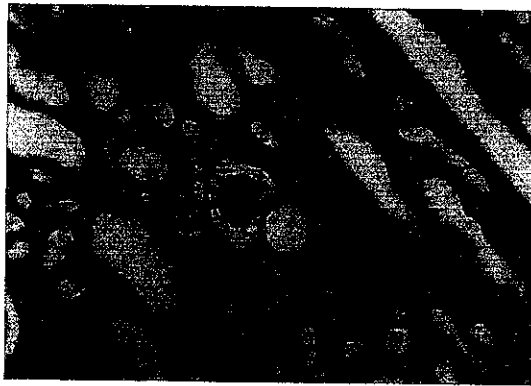
Gambaran Patologi Anatomi



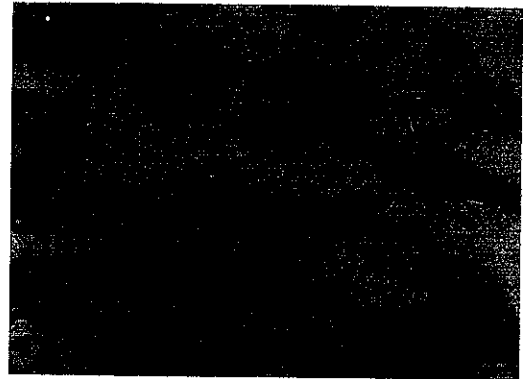
Ginjal dengan pemakaian antioksidan
pembesaran 40 kali



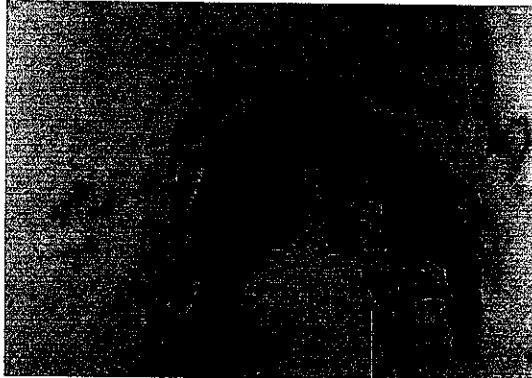
Ginjal dengan pemakaian antioksidan
pembesaran 100 kali



Ginjal tanpa pemakaian anti oksidan
pembesaran 40 kali



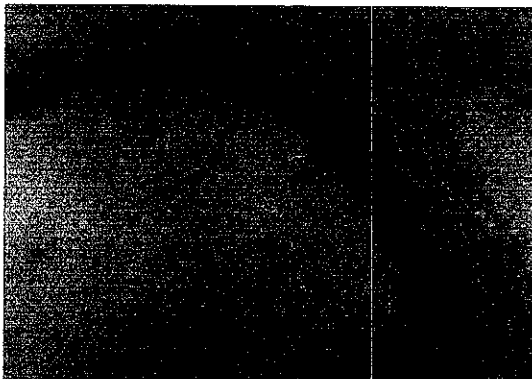
Ginjal tanpa pemakaian anti oksidan
pembesaran 100 kali



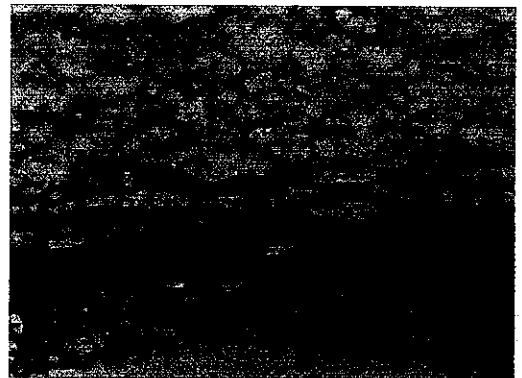
Ureter dengan pemakaian antioksidan
pembesaran 40 kali



Ureter dengan pemakaian
antioksidan pembesaran 100 kali



Ureter tanpa pemakaian antioksidan
pembesaran 40 kali



Ureter tanpa pemakaian antioksidan
pembesaran 100 kali

Perbedaan antar kelompok perlakuan dianalisa dengan menggunakan uji chi-square (χ^2).

Untuk data-data numerik dilakukan analysis of Varians (ANOVA) dilanjutkan dengan post Hoc test Bonferroni. Semua analisa dilakukan dengan bantuan komputer menggunakan program SPSS 10.05 for win. Perbedaan dinyatakan bermakna bila didapatkan harga $p \leq 0,05$

Uji chi-square (X^2) antar kelompok perlakuan didapatkan bahwa kelainan mikroskopis ginjal dan ureter pada :

1. Kelompok ligasi 7 hari dengan antioksidan dengan kelompok ligasi 7 hari tanpa antioksidan didapatkan $t = -1.451$ dengan $p = 0.177$ ($p > 0.05$) – tidak berbeda bermakna.
2. Kelompok ligasi 7 hari dengan antioksidan dengan kelompok ligasi 14 hari tanpa antioksidan didapatkan $t = -4.385$ dengan $p = 0.001$ ($p < 0.05$) – berbeda bermakna
3. Kelompok ligasi 7 hari tanpa antioksidan dengan kelompok ligasi 14 hari tanpa antioksidan didapatkan $t = -2.449$ dengan $p = 0.034$ ($p < 0.05$) – berbeda bermakna.
4. Kelompok ligasi 7 hari dengan antioksidan dengan kelompok ligasi 14 hari dengan antioksidan didapatkan $t = 0.000$ dan $p = 1.000$ ($p > 0.05$) – tidak berbeda bermakna
5. Kelompok ligasi 7 hari tanpa antioksidan dengan kelompok ligasi 14 hari dengan antioksidan didapatkan $t = 1.451$ dan $p = 0.177$ ($p > 0.05$) – tidak berbeda bermakna.
6. Kelompok ligasi 14 hari dengan antioksidan dengan kelompok ligasi 14 hari tanpa antioksidan didapatkan $t = -4.385$ dan $p = 0.001$ ($p < 0.05$) – berbeda bermakna.
7. Kelompok kontrol dengan kelompok ligasi 7 hari dengan antioksidan didapatkan $t = -1.907$ dengan $p = 0.086$ ($p > 0.05$) – tidak berbeda bermakna.
8. Kelompok kontrol dengan kelompok ligasi 14 hari dengan antioksidan didapatkan $t = -1.907$ dengan $p = 0.086$ ($p > 0.05$) – tidak berbeda bermakna.

9. Kelompok kontrol dengan kelompok ligasi 7 hari tanpa antioksidan ; $t = -3.508$ $p = 0.006$ ($p < 0.05$) – berbeda bermakna
10. Kelompok kontrol dengan kelompok ligasi 14 hari tanpa antioksidan ; $t = -8.367$ dan $p = 0.000$ ($p < 0.05$) – berbeda bermakna

Test of homogeneity of variance pada volume ginjal awal $p = 0.406$, tidak berbeda berarti bersifat homogen. Tes dilanjutkan dengan uji Anova antar kelompok untuk volume ginjal post operasi didapat $F = 111.304$ dan $p = 0.000$, ini berarti ada perbedaan signifikan yang bermakna untuk volume ginjal post operasi pada 5 kelompok.

Uji test Post Hoc Bonferonni untuk menilai volume ginjal post operasi antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan adalah sebagai berikut :

1. Volume ginjal akhir pada kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan ; $p = 0.0000$ – berbeda bermakna
2. Volume ginjal akhir pada semua kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol ; $p = 0.000$ – berbeda bermakna
3. Volume ginjal akhir pada kelompok ligasi 7 hari dengan antioksidan dengan kelompok ligasi 7 hari tanpa antioksidan ; $p = 1.000$ – tidak berbeda bermakna.
4. Volume ginjal akhir pada kelompok ligasi 7 hari tanpa antioksidan dengan kelompok ligasi 7 hari dengan antioksidan ; $p = 1.000$ – tidak berbeda bermakna
5. Volume ginjal akhir pada kelompok ligasi 14 hari dengan antioksidan dengan kelompok ligasi 14 hari tanpa antioksidan ; $p = 1.000$ – tidak berbeda bermakna
6. Volume ginjal akhir pada kelompok ligasi 14 hari tanpa antioksidan dengan kelompok ligasi 14 hari dengan antioksidan ; $p = 1.000$ – tidak berbeda bermakna
7. Volume ginjal akhir pada ligasi 7 hari dengan antioksidan dengan kelompok ligasi 14 hari tanpa dan dengan antioksidan; $p = 0.025$, $p=0.003$ – berbeda bermakna

8. Volume ginjal akhir pada ligasi 7 hari tanpa antioksidan dengan kelompok ligasi 14 hari tanpa dan dengan antioksidan; $p = 0.003$, $p = 0.022$ – berbeda bermakna
9. Volume ginjal akhir pada ligasi 14 hari dengan antioksidan dengan kelompok ligasi 7 hari tanpa dan dengan antioksidan ; $p = 0.022$, $p = 0.025$ – berbeda bermakna
10. Volume ginjal akhir pada ligasi 14 hari tanpa antioksidan dengan kelompok ligasi 7 hari tanpa dan dengan antioksidan ; $p = 0.003$ $p = 0.003$ – berbeda bermakna

BAB VII

PEMBAHASAN

Dari hasil uji chi-square diatas dapat disimpulkan bahwa kerusakan ginjal dan ureter akibat ligasi ureter semakin lama akan semakin bertambah berat. Pemberian antioksidan pada ligasi ureter memberikan gambaran mikroskopis ginjal dan ureter yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ($p = 0.086$) dan pada ligasi ureter tanpa pemberian antioksidan memberikan gambaran mikroskopis ginjal dan ureter yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ($p = 0.006$ untuk ligasi 7 hari dan $p = 0.000$ untuk ligasi 14 hari) sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian antioksidan dapat mencegah dan mengurangi kerusakan ginjal dan ureter yang terjadi akibat ligasi ureter. Pada penelitian ini dilakukan ligasi selama 7 hari dan 14 hari, dengan mengambil dasar bahwa pada percobaan terdahulu menggunakan anjing, setelah obstruksi ureter satu sisi GFR akan menjadi 17 % dalam 1 hari, 14 % dalam 2 minggu ^(7,9,11). Pada penelitian lain pada kelinci dikatakan bahwa obstruksi 2-3 minggu akan menyebabkan kematian sel 100 % ⁽⁹⁾. Diharapkan dengan dipakainya antioksidan selama waktu-waktu tersebut dapat meningkatkan GFR.

Jika dibandingkan dengan ligasi pada waktu yang sama tanpa pemberian antioksidan maka pemberian antioksidan pada ligasi ureter 7 hari belum dapat memberikan hasil yang bermakna terhadap pencegahan dan pengurangan kerusakan ginjal dan ureter ($p = 0.177$) sedangkan pada ligasi 14 hari, sudah terlihat memberikan hasil yang bermakna terhadap pencegahan dan pengurangan kerusakan ginjal dan ureter ($p = 0.001$). Pada kelompok ligasi 7 hari dengan antioksidan jika dibandingkan dengan kelompok ligasi 14 hari dengan antioksidan tidak berbeda bermakna ($p=1.000$) Dapat disimpulkan bahwa penggunaan antioksidan yang berlangsung lama lebih nyata dan bermakna dalam memberikan efek pencegahan dan pengurangan kerusakan mikroskopis pada ginjal dan ureter pada obstruksi ureter. Kemungkinan lain ligasi 7 hari belum menampakkan

kerusakan yang berat pada ginjal dan ureter secara mikroskopis dan antioksidan dapat mencegah bertambah beratnya kerusakan yang terjadi pada ligasi 14 hari

Dari hasil tes Post Hoc Bonferonni – hidronefrosis dan hidroureter yang terjadi berbeda bermakna diantara kelompok kontrol dan kelompok yang mendapat perlakuan ($p=0.000$). Hidronefrosis dan hidroureter pada kelompok yang mendapat antioksidan dan kelompok yang tidak mendapat antioksidan, tidak berbeda bermakna ($p > 0.05$). Hal ini dapat disimpulkan keadaan hidronefrosis dan hidroureter tetap dapat terjadi dengan pemberian antioksidan dan antioksidan hanya bekerja pada sel ginjal dan ureter yang mengalami obstruksi, tetapi tidak mengurangi efek penekanan yang terjadi pada ginjal dan ureter berupa hidronefrosis dan hidroureter.

BAB VIII

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

1. Kerusakan ginjal dan ureter akibat ligasi ureter semakin lama akan semakin bertambah berat
2. Pemberian antioksidan dapat mencegah dan mengurangi kerusakan ginjal dan ureter yang terjadi akibat ligasi ureter.
3. Penggunaan antioksidan yang berlangsung lama lebih nyata dan bermakna dalam memberikan efek pencegahan dan pengurangan kerusakan mikroskopis pada ginjal dan ureter pada obstruksi ureter
4. Ligasi ureter selama 7 hari belum menampakkan kerusakan yang berat pada ginjal dan ureter secara mikroskopis dan antioksidan dapat mencegah bertambah beratnya kerusakan yang terjadi pada ligasi ureter selama 14 hari
5. Hidronefrosis dan hidroureter tetap dapat terjadi dengan pemberian antioksidan karena antioksidan hanya bekerja pada sel ginjal dan ureter yang mengalami obstruksi, tetapi tidak mengurangi efek penekanan yang terjadi pada ginjal dan ureter berupa hidronefrosis dan hidroureter.

SARAN

Pengalaman kasus dilapangan terhadap kasus obstruksi ginjal tanpa urosepsis, terapi definitif biasanya tertunda (1-2 minggu) setelah diagnosis ditegakkan karena menunggu hasil-hasil pemeriksaan seperti kimia darah, kultur urin, EKG dan lain-lain. Hal ini merupakan ancaman kerusakan ginjal lebih besar dan permanen, sehingga perlu dipikirkan langkah-langkah untuk mengurangi kerusakan tersebut. Merujuk dari hasil penelitian yang telah dipaparkan diatas bahwa antioksidan dapat mencegah kerusakan sel secara bermakna pada obstruksi ureter total maka pemberian antioksidan dapat dipakai sebagai rangkaian pengobatan suportif pada terapi definitif untuk menanggulangi masalah diatas.

BAB IX
DAFTAR PUSTAKA

01. Tanagho EA. **Urinary Obstruction and Statis**. In : Smith's General Urology. 13thed.Appleton and Lange : a publishing division of Prentice Hall ; 1992.p. 165-178
02. Tanagho EA. **Anatomy of The Genitourinary Tract**. In : Smith's General Urology. 13thed. Appleton and Lange : a publishing division of Prentice Hall ; 1992.p.165-178
03. Mark C. Adams. **Surgical Anatomy of the kidneys and ureters**. In : Campbell's urology. 7thed.WB Saunders Company ; 1998.p. 69-88
04. Mark C. Adams. **Pathophysiology of Urinary Tract Obstruction**. In : Campbell's urology. 7thed. WB Saunders Company ;1998.p.343-379.
05. Schulsinger. **Obstructive Nephropathy**. December 2000. Available from sunysb2003@yahoo.com
06. Enday Sukandar. **Nefrologi Klinik**. edisi II; 1997.hal. 98-100
07. Katherine M,James. **Urinary Obstruction**. April.1998. Available in [http://www.google.com/uropathy obstruction](http://www.google.com/uropathy%20obstruction).p.1-5
08. Anonymous.**Obstructive Uropathy**. In : Genitourinary Disorders. In : The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, chapter 217,2000. Available in [http://www.google.com/uropathy obstruction](http://www.google.com/uropathy%20obstruction).
09. Crystal R.Martin. **Obstructive uropathy**. 2001 health answers. Available in <http://www.discoveryhealth.com>.
10. Cotran RS. **Jejas Sel dan Adaptasi**. Dalam : Patologi I.Edisi 4.EGC.1995.hal.1-28
11. Young Kang. **Acute unilateral obstructive uropathy**. 2002.New York. Available in <http://www.urac.org>
12. Cotran RS,Kumar V,Collins T. **Cellular Pathology I : Cell Injury and Cell Death**.In : Pathologic Basis of Disease. 6th ed.vol.I. WB Saunders Company Tokyo.1999.p.1-28

13. National Kidney Foundation. **Urinary Obstruction**. In : Primer on Kidney Diseases. 1998. ch.57. Available in <http://www.idsociety.org/uropathy/obstruction>.
14. Halliwell B . **Free Radicals, Antioxidants, and Human disease : curiosity, cause or consequence ?**. Neurogenerative Disease Research Group. King College, London 1994 ; Vol 344 : 721-725
15. Halliwell B. **Drug Antioxidants Effects A Basis for Drug Selection**. Pulmonary Medicine, UC Davis Medical Centre, Sacramento, california, USA, 1991 ;vol 4 : 569-605
16. Hans M. **Radikal bebas, proses menua dan gangguan kardiovaskuler**. Simposium sehari PERSAGI 1991, Jakarta, 1991
17. Purnomo. **Oksidan, antioksidan dan radikal bebas**. Kongres Himpunan Kimia Klinik Indonesia (HKKI) VI 1995 : 1-12
18. Southorn PA, Powis G. **Free radicals in Medicine I Chemical Nature and Biologic Reactions**. Mayo Clin Proc 63, 1998.p. 381-398
19. Southorn PA, Powis G. **Free radicals in Medicine II Involvement in Human Disease**. Mayo Clin Proc 63, 1998.p. 390-408
20. Nahum A, Sznajder JI. **Role of Free Radicals in Critical illness**. .p.679-692.
21. Ikeda Y, Long DM. **The role of oxygen free radicals**. In : The Molekular Basis of Brain Injury and Brain Edema :. Neurosurgery. Vol.27.No.1.1990
22. Anonymous. **Peran Klinik Vitamin E**. Buletin Dalfarol, Darya-varia Laboratoris. hal. 1-11
23. Askandar T, Ari S . **Radikal bebas dan diabetes (aspek klinik – aspek terapi)** dalam : Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas Pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan. Perhimpunan Spesialis Bedah Syaraf Indonesia RSUD dr Sutomo FK Unair Surabaya, 4 november 1995. hal. 1-22
24. Hedi R, Wardhini S. **Vitamin dalam : Farmakologi dan terapi**. edisi 3. Balai penerbit FKUI .Jakarta, 1972. hal. 649-674

25. Anonymous. **Introduction, definition & mode of action of antioxidants** .In : The Doctor's Lounge. October 31, 2002. Available from <http://www.thedoctorslounge.net>
26. Anonymous. **Free radicals**.In : The Doctor's Lounge. October 31, 2002. Available from <http://www.thedoctorslounge.net>
27. Anonymous. **Antioxidants and free radicals**. 2000. Available from <http://www.AlternativeMedicineAndHealth.com>.
28. Riwanto I. **Penulisan Artikel Ilmiah Biomedik**. Ropanasuri Majalah Ilmu Bedah Indonesia 1998 ; 26(3).hal.45-52
29. Santoso S. **SPSS versi 10 Mengolah Data Secara Profesional**. Cetakan ke 2. Jakarta. Elex Media Computindo Gramedia, 2002.
30. Sastroasmoro, Sudigdo. **Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis**. Edisi II. 2002. Sagung Seto Jakarta.
31. Brij M. Mitruka, **Clinical Biochemical and Hematological Reference values in Normal Experimental Animals and Normal Humans**, Second edition, 1981, Year Book Medical Publishers – Inc, Chicago ; page 181